

Long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants : influence of pre- and postnatal supplies

Citation for published version (APA):

Foreman-van Drongelen, M. M. H. P. (1996). *Long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm infants : influence of pre- and postnatal supplies*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Krips Repro. <https://doi.org/10.26481/dis.19960614mf>

Document status and date:

Published: 01/01/1996

DOI:

[10.26481/dis.19960614mf](https://doi.org/10.26481/dis.19960614mf)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 05 May. 2023

Summary

The long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPs: essential fatty acids (EFAs) with 20 or more carbon atoms and at least 3 double bonds) docosahexaenoic acid (cervonic acid, 22:6*n*-3) and arachidonic acid (20:4*n*-6) are the predominant structural fatty acids in the human brain and retina. An adequate supply of these LCPS during the period of their most rapid accumulation (the last months of gestation and the first months of postnatal life) is believed to be of major importance for appropriate growth and development of these organs. In addition, 20:4*n*-6, dihomo- γ -linolenic acid (20:3*n*-6) and eicosapentaenoic acid (20:5*n*-3) are precursors of prostaglandins and other eicosanoids, which have important bioregulatory functions. Preterm infants undergo 3rd trimester growth and development extrauterinely and are deprived of the substantial accretion of fat, including *n*-6 and *n*-3 LCPS, during late pregnancy. The studies described in this thesis were designed to extend the existing knowledge on the biochemical LCP status of preterm infants and on how this status is influenced by the supply of EFAs, and LCPS in particular, during intrauterine and early postnatal life. In addition, some methodological aspects were considered.

First, the EFA status at birth of 43 preterm infants was compared with that of 43 infants carried to term (Chapter 2). To obtain an indication of the fetal EFA status over a longer period of time, the EFA composition of umbilical vessel wall phospholipids (PLs) was studied. Generally, *n*-6 and *n*-3 LCP levels were lower, while levels of EFA deficiency markers, such as Mead acid (20:3*n*-9), the EFA deficiency index (20:3*n*-9/20:4*n*-6), Osbond acid (22:5*n*-6), and the cervonic acid deficiency index (CADI: 22:5*n*-6/22:4*n*-6), were higher in preterm cords. This lower biochemical EFA status of the preterm fetus was reflected by fatty acid values in both the draining arteries and the supplying vein. Yet, *n*-6 and *n*-3 EFA levels in preterm cords correlated significantly and positively with gestational age (GA) at birth, which indicates that the lower preterm EFA values could merely be a reflection of a physiologically lower demand for EFAs, necessary for growth and development, of the preterm fetus. The negative correlations found between GA and values for EFA deficiency markers suggest an increasing adequacy of the EFA supply towards term. For the preterm infants, arterial LCP levels were also found to be related to prenatal growth: significant, positive correlations between umbilical cord *n*-6 and *n*-3 LCP levels and birth weight, and between 22:6*n*-3 and length at birth were supported by a number of positive relations between *n*-6 and *n*-3 LCP levels and head circumference (HC), or length, which tended to be significant. All correlations were corrected for the confounding effect of GA at birth.

As in Chapter 2, studies on the fetal EFA or LCP status are usually based on materials collected (shortly) after delivery (umbilical plasma, red blood cells (RBCs), or cord vessel walls), but whether the EFA profile at birth accurately reflects fetal EFA values is actually unknown. To obtain some insight into this, the EFA profiles of fetal plasma samples obtained by transabdominal puncture during pregnancy (*n*=86, GA:18-39 weeks) were studied (Chapter 3). The fetal plasma EFA profile was found to change with increasing pregnancy duration in a fatty acid specific way: the linoleic acid (18:2*n*-6) level increased slightly, values for 20:4*n*-6 decreased, while those for 22:6*n*-3 increased. The overall EFA status increased with advancing GA, which is in agreement with the observations in Chapter 2. However, increasing values for the markers of a specific 22:6*n*-3 shortage (22:5*n*-6 and

CADI) and the decreasing value for the cervonic acid sufficiency index (CASI: 22:6*n*-3/22:5*n*-6) indicated that the functional 22:6*n*-3 status declined. This may suggest that the increased availability of 22:6*n*-3 (fetal plasma 22:6*n*-3 values increased) is still insufficient to cover the high fetal 22:6*n*-3 demand associated with rapid (neural) tissue growth and development during late gestation. Compared with plasma samples (*n*=51) that were collected from the umbilical cord immediately after birth at similar GAS (28-39 weeks), EFA levels in the fetal samples were alike or slightly lower (18:2*n*-6, Σ *n*-6 EFAs). This observation supports the assumption that the relatively low EFA status of preterm infants at birth (Chapter 2) is developmentally related. Besides, it indicates that the plasma EFA status measured after delivery is a reasonably adequate reflection of the actual fetal plasma EFA status.

Although higher than that of preterm newborns (Chapter 2), the EFA status of term infants born after an uneventful, singleton pregnancy may still be considered marginal because of the high 20:3*n*-9 levels that are present in their umbilical artery vessel walls. If this low EFA status is caused by a limiting maternal EFA supply, the higher total fetal EFA demand associated with a multiple pregnancy would result in an even lower infant EFA status. Hence, we compared the EFA status at birth of 30 pairs of twins, 7 sets of triplets, and 1 set of quintuplets with that of 94 infants (51 preterm, 43 term) born after a singleton pregnancy (Chapter 4). Again, PL-associated EFA profiles of the umbilical vessel walls were studied. At similar GAS, arterial and venous levels of *n*-6 and *n*-3 EFAs were generally lower, while those of EFA-deficiency indicating *n*-9 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) were significantly higher for infants born after a multiple pregnancy. The EFA profiles of twins and triplets were comparable, but the average EFA status of the set of quintuplets was lower than that of twins and triplets. All in all, the observation of a lower EFA status of infants born after a multiple pregnancy supports the view that the maternal EFA supply to the fetus is limiting. Considering the importance of particularly LCPS for proper growth (Chapter 2) and development, this finding warrants further studies of the adequacy of the maternal EFA intake during pregnancy in general. Moreover, multiple pregnancy is a major cause of preterm delivery which is also associated with a lower EFA status. Considering the added effect of a lower EFA and LCP status as a result of multiple pregnancy, the adequacy of the EFA and LCP status of preterm twins and triplets may be a subject of particular concern.

Effects of the pre- and postnatal LCP supplies on the postnatal LCP status of preterm infants were studied in plasma and RBC PLs of blood samples collected at regular intervals after birth (Chapters 6 to 8). To reduce the burden placed on the participating infants, the required blood samples were to be collected in conjunction with venous or capillary diagnostic punctures. The comparability of the fatty acid profiles of plasma and of RBC PLs isolated from both types of blood is described in Chapter 5. In addition, the effects of storage at -20 °C for a maximum of 4 weeks were evaluated, since all blood samples of a preterm infant were to be analyzed simultaneously to ensure uniformity of analytic conditions. For ethical reasons, this study was not performed in young infants but in 8 healthy adult volunteers. Plasma fatty acid profiles from venous and capillary blood were comparable and not affected by up to 4 weeks of storage. RBC fatty acid concentrations from venous and capillary blood were comparable after up to 1 week of storage before lipid extraction. However after 4 weeks of storage, the total amount of PL-associated fatty acids in capillary RBCs was decreased to half the initial value. This decline was mainly caused by

a decrease of almost 90% in the concentration of PUFAs and was not observed in venous RBCs. Consequently, highly significant differences developed between the fatty acid profiles of venous and capillary RBCs. Loss of membrane structural integrity may have added to the higher susceptibility to lipid loss of RBCs collected by capillary puncture. The iron-induced oxidation of PUFAs can possibly be prevented by preparing RBC ghosts or lipid extracts from the capillary RBCs within 1 week after blood sampling, or by adding an iron-chelating agent, preferably desferrioxamine, during handling and storage of the RBCs.

Preterm infants are dependent on their own dietary EFA supply to handle the demands associated with the rapid brain and body growth which normally takes place during the last trimester of pregnancy. The two enteral dietary EFA sources available to newborn infants are human milk, which contains small but significant amounts of 22:6 n -3, 20:4 n -6 and other LCPs, or commercially available artificial formulas, which did not contain LCPs when the studies described in this thesis were initiated. Considering the facts that preterm infants have very limited fatty acid stores and are born with a lower LCP status than infants carried to term (Chapter 2), feeding preterm newborns on an artificial formula will potentially threaten their postnatal LCP status. Indeed, when the LCP status of 12 human milk-fed preterm infants (birth weight < 1800 g) was compared with that of 27 formula-fed infants during the first 4 weeks of life (Chapter 6), a number of significant differences were observed. After 21 to 28 days, absolute (mg/l) and relative (% (wt/wt) of total fatty acids) 22:6 n -3 values and the absolute 20:4 n -6 amount had become substantially lower in the plasma PLs of the formula-fed infants. Effects on the 22:6 n -3 status were supported by the a higher value for the CADI in the formula group. In RBC PLs, the postnatal decreases of 22:6 n -3 and 20:4 n -6 in the formula group were approximately twice those in the human milk-fed group, but these differences did not reach significance. The slower turnover rate of RBC PLs than of plasma PLs may have contributed to the less distinct nutritional effects on these cells over a relatively short period of time. Apparently, the presence of the parent EFAs 18:2 n -6 and α -linolenic acid (18:3 n -3) in the formulas was unable to fully compensate for the absence of LCPs, which may be related to the limited desaturase capacity of preterm newborns. Therefore, for formula-fed infants to achieve postnatal plasma LCP values at least similar to those found in infants fed on human milk, both n -3 and n -6 LCPs should be added to preterm infant formulas. Another main finding of this study (and that of Chapter 8) was that, in plasma PLs, the changes with time after birth were markedly different when fatty acid values were expressed as absolute or as relative values, which illustrates the additional importance of measuring absolute fatty acid amounts. However, analytical procedures need to be standardized to enable effective comparison of results from various research groups.

After having found a substantial effect of the postnatal LCP supply on the biochemical postnatal LCP status of preterm infants (Chapter 6), the influence of the intrauterine LCP supply on postnatal LCP values was assessed in 28 preterm infants (average GA at birth: 32 weeks; Chapter 7). Such an influence could be of importance, considering the widely divergent LCP levels with which infants are born (Chapters 2, 4 and 6). The LCP status at birth (measured in the umbilical artery wall PLs, and in umbilical plasma or RBC PLs) which results from the prenatal LCP supply, and the postnatal diet (human milk or conventional artificial formula), representing the postnatal LCP supply, were related to the LCP status measured in plasma or RBC PLs collected from the preterm infants in the period during

which they were actually due to be born (37-42 weeks GA). Indeed, the biochemical LCP status some 2 months after preterm birth was determined not only by the postnatal diet, but also by the LCP status at birth: a higher plasma 20:4n-6 concentration at birth resulted in a higher plasma 20:4n-6 concentration 'at term', and higher 22:6n-3 and 20:4n-6 values in the walls of the umbilical arteries lead to higher postnatal RBC 22:6n-3 and 20:4n-6 contents. These findings stress the significance of an appropriate prenatal LCP supply (a major determinant of the LCP status at birth), particularly for infants who are born preterm, or after a multiple pregnancy, or both. Since this prenatal LCP supply can only be changed by adapting the maternal fatty acid intake, these results warrant further studies of the effects of EFA-enriched maternal diets during pregnancy on the infant LCP status at birth. Besides in the study of Chapter 7, the exploration of the relations among EFA status, GA, and growth parameters at birth (Chapter 2) was extended by also studying LCP levels in umbilical plasma and RBC PLs. However, after correction for GA at birth, significant relations were only observed between anthropometric measurements at birth (weight, HC, and length) and LCP levels in the umbilical artery wall. Perhaps the fact that LCP levels in umbilical plasma and RBC PLs are relatively short-term indicators of the fetal LCP status, renders their correlation with measures of a long-term process like fetal growth likely to be less distinct.

The results of a randomized controlled intervention study of the effects on the LCP status of supplying formula-fed preterm infants (birth weight < 1800 g) with an artificial formula containing both 22:6n-3 (0.3%) and 20:4n-6 (0.6%) in levels present in human milk were described in Chapter 8. Blood LCP levels of 15 infants fed on the LCP-enriched study formula were compared with those of 16 infants receiving a conventional formula (lacking LCPS), and with those of 12 preterm infants raised on human milk. Weekly postnatal blood samples were collected until the 35th day of life and, for the formula-fed infants, at 3 months after their initial term date (3 months of corrected age). After 4 weeks of postnatal life, the plasma and RBC PL 22:6n-3 and 20:4n-6 levels in preterm infants fed on the LCP-enriched preterm formula were significantly higher than those in infants which had received a conventional formula, and were comparable to those of preterm infants raised on their own mother's milk. The differences between the two formula groups continued to increase, resulting in average plasma 22:6n-3 and 20:4n-6 values that were up to 4 and 2 times higher, respectively, in the LCP-enriched formula group at 3 months of corrected age. Both in plasma and RBC PLs, inter-group differences found for the 22:6n-3 status were also reflected by the two indices of the functional 22:6n-3 status: CADI values were significantly lower in the infants fed on LCP-enriched formulas, while CASI values were higher. The results of this relatively long-term study show that feeding preterm infants on artificial formulas enriched with both 22:6n-3 and 20:4n-6 in balanced ratios, i.e. in amounts found in preterm human milk, is a successful approach to raising both the 22:6n-3 and 20:4n-6 status of preterm formula-fed infants to values found in blood PLs of preterm infants fed on human milk. Additional studies are necessary to evaluate the potentially favourable effects of this combined addition on the (neuro)developmental outcome of preterm infants.

In Chapter 9, the major findings of the above-mentioned studies and their implications for current views and future research are discussed. In particular, the purpose of supplementing the maternal, fetal and infant diet with n-6 and n-3 EFAs, and the importance of adding clinical and functional outcomes to the biochemical data are considered.

Samenvatting

Het centrale zenuwstelsel (CZS) van de mens is rijk aan zogenaamde langketenige meervoudig onverzadigde vetzuren ('long-chain polyunsaturated fatty acids', LCPS). Dit zijn voor het lichaam essentiële vetzuren ('essential fatty acids', EFAs) met een ketenlengte van 20 koolstofatomen of meer en tenminste 3 onverzadigde bindingen. De belangrijkste bouwstenen van de celmembranen van het CZS zijn de LCPS docosahexaeenzuur (cervonzuur, 22:6*n*-3) en arachidonzuur (20:4*n*-6). Met name tijdens de laatste maanden van de zwangerschap en de eerste maanden na de geboorte neemt het CZS zeer snel in omvang toe, en een toereikende aanvoer van 22:6*n*-3 en 20:4*n*-6 in die periode wordt geacht van groot belang te zijn voor een ongestoorde groei en ontwikkeling van dit orgaan. Daarnaast dienen 20:4*n*-6, dihomog- γ -linoleenzuur (20:3*n*-6) en eicosapentaeenzuur (20:5*n*-3) als substraat voor de vorming van prostaglandines en andere eicosanoiden, die belangrijke regulerende taken hebben. Te vroeggeboren kinderen maken de bij het laatste trimester van de zwangerschap horende groei en ontwikkeling buiten de baarmoeder door; zij zijn derhalve verstoken van de belangrijke opslag van vetten, waaronder *n*-6 en *n*-3 LCPS, die normaal aan het einde van de zwangerschap plaatsvindt. Het in dit proefschrift beschreven onderzoek had tot doel de reeds aanwezige kennis van de biochemische LCP status van premature zuigelingen uit te breiden dan wel te verdiepen. Hierbij werd met name bestudeerd hoe deze status wordt beïnvloed door de voorziening van EFAs, en met name van LCPS, tijdens het intra-uteriene en vroeg-postnatale leven. Ook werden een aantal methodologische aspecten onderzocht.

Ten eerste werd de EFA status bij de geboorte van 43 premature zuigelingen vergeleken met die van eenzelfde aantal voldragen kinderen (Hoofdstuk 2). Hierbij werd de EFA samenstelling van de fosfolipiden (FLs) in de navelstrengvaatwanden beoordeeld, omdat die een indruk geeft van de foetale EFA status over een langere termijn. Over het algemeen waren de gehalten aan EFAs van de *n*-6 en *n*-3 families lager en de gehalten aan EFA deficiëntie-indicatoren [waaronder Meadzuur (20:3*n*-9), de EFA deficiëntie index (20:3*n*-9/20:4*n*-6), Osbondzuur (22:5*n*-6), en de cervonzuur deficiëntie index (CADI: 22:5*n*-6/22:4*n*-6)] hoger in de navelstrengen van premature kinderen. Deze lagere biochemische EFA status van de premature foetus werd weerspiegeld in de vetzuurgehalten van zowel de afvoerende navelstrengarteriën als de aanvoerende -vene. De gehalten aan *n*-6 en *n*-3 EFAs bleken echter positief gecorreleerd te zijn met de zwangerschapsduur ten tijde van de geboorte. Dit zou erop kunnen duiden dat de lagere EFA waarden zoals gemeten bij het te vroeggeboren kind slechts een afspiegeling zijn van een fysiologisch lagere behoefte aan EFAs van de premature foetus, wiens CZS en lichaam zich nog in een relatief vroege fase van groei en ontwikkeling bevinden. De negatieve correlaties die werden gevonden tussen de zwangerschapsduur en de gehalten aan EFA deficiëntie-indicatoren geven aan dat, naarmate de zwangerschap vordert, de EFA aanvoer steeds beter in de aanwezige behoefte voorziet. Arteriële LCP gehalten van premature pasgeborenen bleken ook nauw samen te hangen met de foetale groei: significante, positieve correlaties werden gevonden tussen *n*-6 en *n*-3 LCP waarden en het geboortegewicht, en tussen 22:6*n*-3 en de geboortelengte. Daarnaast werden een aantal nagenoeg significante, positieve correlaties gevonden tussen *n*-6 en *n*-3 LCP gehalten enerzijds en schedelomtrek en lengte bij de geboorte anderzijds. Al deze correlaties werden gecorrigeerd voor de invloed van de zwangerschapsduur bij de geboorte.

Zoals ook in Hoofdstuk 2, wordt bij onderzoek naar de foetale EFA of LCP status doorgaans gebruik gemaakt van materialen die (kort) na de geboorte worden verzameld (navelstrengplasma, -erytrocyten ('red blood cells', RBCs), of -vaatwanden). Het is echter onbekend of de EFA samenstelling bij de geboorte een juiste afspiegeling is van foetale EFA gehalten. Om hier enig inzicht in te krijgen, werd de EFA samenstelling van plasma uit foetaal bloed dat via een transabdominale punctie tijdens de zwangerschap werd afgenomen ($n=86$, zwangerschapsduur: 18-39 weken) bestudeerd (Hoofdstuk 3). Naarmate de zwangerschap vorderde, veranderden de gehalten van de diverse EFAs in foetale plasma FLs op verschillende manieren: linolzuur ($18:2n-6$) vertoonde een geringe stijging, het $20:4n-6$ gehalte nam af, dat van $22:6n-3$ nam toe. De algehele EFA status steeg bij een toenemende zwangerschapsduur, hetgeen overeenkomt met de bevindingen in Hoofdstuk 2. De stijgende waarden voor de indicatoren van een specifiek tekort aan $22:6n-3$ ($22:5n-6$, CADI) en de daling van de waarde voor de cervonzuur 'sufficiëntie' index (CAST: $22:6n-3/22:5n-6$) duiden echter op een vermindering van de functionele $22:6n-3$ status. Wellicht is de verhoogde beschikbaarheid van $22:6n-3$ (foetale $22:6n-3$ plasmawaarden stegen met toenemende zwangerschapsduur) nog steeds onvoldoende om te voorzien in de, door de snelle weefselgroei en -ontwikkeling, grote foetale behoefte aan dit vetzuur tijdens de laatste maanden van de zwangerschap. Wanneer de foetale plasmamonsters werden vergeleken met plasmamonsters uit bloed dat bij de geboorte uit de navelstreng was afgenomen ($n=51$, zwangerschapsduur: 28-39 weken), bleek dat, op hetzelfde moment in de zwangerschap, de EFA gehalten in het foetale plasma hetzelfde of enigszins lager ($18:2n-6$, $\Sigma n-6$ EFAs) waren. Deze bevinding ondersteunt onze veronderstelling dat de relatief lage EFA status van premature pasgeborenen (Hoofdstuk 2) een fysiologisch verschijnsel is dat samenhangt met hun vroegere ontwikkelingsfase. Daarnaast blijkt hieruit dat de EFA status zoals gemeten in na de geboorte afgenomen navelstrengplasma een redelijk betrouwbare weergave is van de EFA status in foetaal plasma.

Hoewel de EFA status van gezonde, voldragen kinderen hoger is dan die van te vroeggeboren zuigelingen (Hoofdstuk 2), zouden hun EFA waarden nog steeds als 'krap' beschouwd kunnen worden, met name vanwege de aanzienlijke $20:3n-9$ gehalten (EFA deficiëntie-indicator) in de wanden van de navelstrengarteriën. Indien deze krappe EFA gehalten het gevolg zijn van een beperkende EFA voorziening door de moeder, dan zou de hogere gezamenlijke foetale EFA behoefte bij een meerlingzwangerschap tot nog lagere EFA waarden bij de kinderen moeten leiden. Of dit inderdaad het geval was, werd onderzocht (Hoofdstuk 4) door de EFA status bij de geboorte van 30 tweelingen, 7 drielingen, en 1 vijfeling te vergelijken met die van 94 eenlingen (51 prematuur, 43 voldragen). Net zoals in Hoofdstuk 2, werd de EFA samenstelling van de FLs in de wanden van de navelstrengvaten beoordeeld. Bij eenzelfde zwangerschapsduur bevatten de navelstrengarteriën en -vene van meerlingen over het algemeen significant lagere EFA gehalten en significant hogere waarden voor de op een EFA-deficiëntie wijzende $n-9$ meervoudig onverzadigde vetzuren ('polyunsaturated fatty acids', PUFAs). Twee- en drielingen hadden een vergelijkbare EFA status, maar de gemiddelde EFA status van de vijfeling was beduidend lager dan die van de andere meerlingen. Alles in ogenschouw nemend, lijken deze bevindingen er inderdaad op te duiden dat een beperkende moederlijke EFA voorziening aan de zich ontwikkelende foetus een oorzaak voor de krappe EFA status van pasgeborenen is. Aangezien EFAs, en LCPS in het

bijzonder, worden geacht van groot belang zijn voor een goede groei (Hoofdstuk 2) en ontwikkeling, geven deze resultaten aanleiding tot meer en uitgebreider onderzoek naar de kwaliteit van de moederlijke inneming van EFAs tijdens zwangerschap in het algemeen. Een meerlingzwangerschap resulteert bovendien vaker dan een eenlingzwangerschap in een premature geboorte, die ook gepaard gaat met een lagere EFA status (Hoofdstuk 2). De als het ware 'dubbel-verlaagde' EFA en LCP status van premature meerlingen verdient derhalve bijzondere aandacht.

De invloed van de pre- en postnatale LCP voorziening op de postnatale LCP status van premature zuigelingen (geboortegewicht < 1800 g) werd bestudeerd in de plasma en RBC FLs van bloedmonsters die na de geboorte wekelijks werden afgenomen (Hoofdstuk 6 tot en met 8). Om de participerende zuigelingen zo min mogelijk te belasten, werd de afname van de benodigde bloedmonsters steeds gecombineerd met veneuze, dan wel capillaire diagnostische puncties. In Hoofdstuk 5 wordt de vergelijkbaarheid van de vetzuursamenstelling van de FL-fractie van veneus en capillair plasma en van veneuze en capillaire RBCs beschreven. Hierbij werd ook de invloed van een bewaartijd van maximaal 4 weken bij -20 °C onderzocht, aangezien alle bloedmonsters van een premature proefpersoon tegelijk, en dus onder dezelfde omstandigheden, geanalyseerd dienden te worden. Om ethische redenen werd dit onderzoek niet gedaan bij (premature) zuigelingen, maar bij 8 gezonde volwassen vrijwilligers. De vetzuurprofielen van plasma van veneuze en capillaire origine bleken goed overeen te komen en niet te worden beïnvloed door een bewaarperiode van 4 weken. De vetzuurprofielen van RBCs afkomstig uit veneus en capillair bloed waren vergelijkbaar indien de vetextractie op de dag van bloedafname of 1 week daarna werd verricht. Echter, na 4 weken bewaren was de totale hoeveelheid vetzuren in capillaire RBCs gedaald tot de helft van de uitgangswaarde. Deze daling was grotendeels het gevolg van een vermindering van de absolute hoeveelheid PUFAs met 90%, en werd niet waargenomen voor de RBCs van veneuze oorsprong. Dientengevolge ontstonden er aanzienlijke verschillen tussen de vetzuurprofielen van veneuze en capillaire RBCs. De grotere gevoeligheid voor vetzuurverliezen van RBCs die via een capillaire punctie zijn verkregen, zou het gevolg kunnen zijn van een verstoring van de structurele integriteit van hun membranen door de bloedafname. De met ijzer als katalysator optredende oxydatie van PUFAs kan wellicht voorkomen worden door binnen 1 week na hun afname het hemoglobine uit de capillaire RBCs te verwijderen, dan wel door hun lipiden te extraheren, of door een ijzer-chelator, liefst desferrioxamine, tijdens de bewerkings- en bewaarfase aan de RBCs toe te voegen.

Premature pasgeborenen zijn aangewezen op hun eigen voeding om te voorzien in de grote EFA-behoefte die het gevolg is van de snelle groei van het CZS, die normaal gesproken tijdens de laatste 3 maanden van het intra-uteriene leven plaatsvindt. De twee soorten enterale voeding die geschikt zijn voor zuigelingen zijn enerzijds moedermelk, die geringe hoeveelheden 22:6n-3, 20:4n-6 en andere LCPs bevat, en anderzijds de kunstmatige zuigelingenvoedingen ('flesvoeding'), waarvan het merendeel (nagenoeg) geen LCPs bevatte toen het onderzoek zoals beschreven in dit proefschrift werd gestart. Prematuur geboren zuigelingen hebben zeer beperkte vetvoorraden en komen bovendien met een lagere LCP status ter wereld dan voldragen kinderen (Hoofdstuk 2). Het geven van flesvoeding aan premature pasgeborenen zou derhalve bij deze kinderen tot relatief lage LCP gehalten kunnen leiden. Om deze hypothese te toetsen werd, gedurende de eerste vier levensweken, de LCP status

van 12 met moedermelk gevoede prematuren vergeleken met die van 27 flesgevoede kinderen (Hoofdstuk 6). Hierbij werden een aantal significante verschillen gevonden tussen beide groepen: na 21 tot 28 dagen waren de absolute (mg/l) en relatieve (gewichts % van totaal vetzuur) 22:6n-3 waarden en het absolute 20:4n-6 gehalte aanzienlijk lager in de plasma FLs van de flesgevoede kinderen dan in die van de moedermelk-groep. De invloed op de 22:6n-3 status bleek ook uit een hogere CADI-waarde in de flesvoeding-groep. In de RBC FLs was de daling van de 22:6n-3 en 20:4n-6 gehalten in de flesvoeding-groep ongeveer tweemaal zo groot als in de moedermelk-groep, maar deze verschillen waren niet significant. De, op korte termijn, minder uitgesproken verschillen in de RBC FLs zouden het gevolg kunnen zijn van hun, vergeleken met plasma FLs, lagere vervangingssnelheid. Blijkbaar kunnen de zogenaamde 'moeder-EFAs' 18:2n-6 en α -linoleenzuur (18:3n-3), die wel in de flesvoeding aanwezig zijn, het ontbreken van de LCPs niet volledig compenseren; door hun nog niet volledig ontwikkeld enzymstelsel zijn de premature zuigelingen onvoldoende in staat om 18:2n-6 en 18:3n-3 zelf om te zetten in, respectievelijk, 20:4n-6 en 22:6n-3. Om de postnatale LCP status van flesgevoede prematuren op het niveau van de status van met moedermelk gevoede premature zuigelingen te brengen, zullen derhalve n-3 en n-6 LCPs aan de premature zuigelingenvoeding moeten worden toegevoegd. Een andere belangrijke bevinding van dit onderzoek (en dat van Hoofdstuk 8) was dat het postnatale vetzuurverloop in plasma FLs opvallend anders was, afhankelijk van of de vetzuurwaarden als mg/l (absoluut) of percentueel (relatief) werden uitgedrukt. De (doorgaans niet gepresenteerde) absolute vetzuurwaarden kunnen dus aanvullende informatie geven. De analytische methodieken van de diverse onderzoeksgroepen in de wereld dienen echter op elkaar afgestemd te worden om tot een zinvolle vergelijking van elkaars resultaten te kunnen komen.

Nadat de postnatale LCP voorziening duidelijk van invloed was gebleken op de biochemische postnatale LCP status van premature zuigelingen (Hoofdstuk 6), werd de invloed van de intra-uteriene LCP aanvoer op postnatale LCP waarden onderzocht in 28 premature kinderen (gemiddelde zwangerschapsduur: 32 weken; Hoofdstuk 7). Aangezien kinderen met zeer uiteenlopende LCP gehalten ter wereld komen (Hoofdstuk 2, 4 en 6), kan een dergelijke invloed van groot belang zijn. Derhalve werd de LCP status bij de geboorte (gemeten in de FLs van de arteriële navelstrengvaatwand en van navelstrengplasma of RBCs) die wordt bepaald door de LCP voorziening tijdens de zwangerschap, gerelateerd aan de LCP status die werd gemeten in plasma of RBC FLs uit bloed dat bij de premature kinderen was afgenomen in hun oorspronkelijke 'à terme periode' (37-42 weken zwangerschapsduur). Hierbij werd ook rekening gehouden met de enterale voeding (moedermelk of flesvoeding) als vertegenwoordiger van de LCP voorziening na de geboorte. Uit de resultaten van dit onderzoek bleek duidelijk dat de biochemische LCP status, in ieder geval tot 2 maanden na een premature geboorte, wordt bepaald door zowel de postnatale enterale voeding als de LCP status bij de geboorte: een hogere 20:4n-6 concentratie in navelstrengplasma resulteerde in een hogere 20:4n-6 plasmaconcentratie in de à terme periode, en hogere 22:6n-3 en 20:4n-6 gehalten in de arteriële navelstrengvaatwanden gingen gepaard met hogere 22:6n-3 en 20:4n-6 RBC-gehalten in de à terme periode. Deze bevindingen onderstrepen het belang van een toereikende LCP voorziening tijdens het intra-uteriene leven, met name wanneer er sprake is van een premature geboorte, een meerlingzwangerschap, of beiden. Aangezien deze prenatale LCP aanvoer alleen veranderd kan worden door de vetzuurinneming van de

zwangere vrouw aan te passen, dient nader onderzocht te worden welke invloed een met EFAs verrijkte voeding tijdens de zwangerschap op de LCP status van het kind heeft. Bij het onderzoek van Hoofdstuk 7 werd tevens de studie van Hoofdstuk 2 naar de relaties tussen de EFA status, de zwangerschapsduur, en groeiparameters bij de geboorte verder uitgebreid door ook de LCP gehalten in navelstrengplasma en -RBC FLs hierbij te betrekken. Na correctie voor de zwangerschapsduur bij de geboorte bleken gewicht, schedelomtrek en lengte bij de geboorte echter alleen samen te hangen met LCP waarden in de wand van de navelstrengarteriën. Wellicht vertonen de LCP-gehalten in navelstrengbloed geen duidelijke relatie met een langdurig proces als groei, omdat zij een indruk geven van de foetale LCP status op de kortere termijn.

Tenslotte werd via een dubbelblind gerandomiseerd onderzoek bestudeerd hoe het geven van een met LCPs verrijkte flesvoeding de postnatale LCP status van te vroeggeboren kinderen beïnvloedt (Hoofdstuk 8). De verrijkte flesvoeding bevatte zowel 22:6n-3 (0.3%) als 20:4n-6 (0.6%) in hoeveelheden zoals die ook aanwezig zijn in premature moedermelk. De LCP gehalten in het bloed van 15 kinderen die de met LCPs verrijkte flesvoeding kregen, werden vergeleken met die van 16 kinderen die een standaardflesvoeding (zonder LCPs) kregen, en met die van 12 met moedermelk gevoede prematuren. Tot en met de 35ste levensdag werd wekelijks een bloedmonster afgenomen en van de flesgevoede zuigelingen werd ook een monster verzameld 3 maanden na hun aanvankelijke à terme datum. Na 4 weken waren de 22:6n-3 en 20:4n-6 gehalten in plasma en RBC FLs significant hoger in de met LCP-verrijkte flesvoeding gevoede groep dan in de met standaardflesvoeding gevoede kinderen. Bovendien waren de bloedwaarden van de verrijkte flesvoedinggroep vergelijkbaar met die van de prematuren die moedermelk hadden gedronken. De verschillen tussen de twee flesvoedinggroepen namen steeds verder toe, hetgeen 3 maanden na de à terme datum resulteerde in respectievelijk 4 en 2 maal zo hoge gemiddelde plasmawaarden voor 22:6n-3 en 20:4n-6 in de verrijkte flesvoedinggroep. Zowel in de plasma als in de RBCs, bleken de verschillen in 22:6n-3 status ook uit de twee indicatoren van de functionele 22:6n-3 status: CADI waarden waren significant lager en CASI waarden significant hoger in de met LCPs verrijkte flesvoedinggroep. De bevindingen van deze relatief langdurige interventie-studie geven aan dat het toevoegen aan premature zuigelingenvoeding van 22:6n-3 en 20:4n-6 in een uitgebalanceerde verhouding, i.e. in gehalten zoals aanwezig in premature moedermelk, een geschikte manier is om zowel de 22:6n-3 als de 20:4n-6 status van premature flesgevoede zuigelingen te verhogen tot in het bloed van met moedermelk gevoede prematuren gemeten waarden. De mogelijk gunstige gevolgen van deze gecombineerde LCP-toevoeging voor de algehele ontwikkeling van te vroeggeboren kinderen en die van hun CZS in het bijzonder, zullen in aanvullende studies nader moeten worden onderzocht.

De belangrijkste bevindingen van bovengenoemde studies en hun betekenis voor de huidige inzichten en toekomstig onderzoek worden besproken in Hoofdstuk 9. Hierbij wordt in het bijzonder aandacht besteed aan het potentiële nut van een met n-6 en n-3 EFAs verrijkte voeding voor zwangere vrouwen, foetussen en zuigelingen, alsmede aan het grote belang van het bepalen van de klinische en functionele relevantie van de biochemische resultaten.